

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22591000

研究課題名（和文） 新規 ApoA1 結合蛋白プログラニューリンのプラーク破綻と痴呆発症メカニズムの検討

研究課題名（英文） The effect of progranulin, a novel ApoA1-binding protein, on the plaque rupture and the mechanism of dementia onset

研究代表者

大濱 透 (Ohama Tohru)

大阪大学・保健センター・助教

研究者番号：20467583

研究成果の概要（和文）：PGRN 欠損マウスは、血中中性脂肪高値の脂質異常と HDL のコレステロール引き抜き能が低下していることを見出した。また、動脈硬化モデルマウスである ApoE 欠損マウスと PGRN 欠損マウスとを交配させたダブルノックアウトマウスを用いた検討で、PGRN 欠損により動脈硬化が著しく促進することを見出した。さらに急性冠症候群の急性期 culprit lesion 近くから採取した血液中の PGRN 濃度は末梢血、慢性期血と比較して PGRN 濃度は低値を示しており、PGRN がプラーク安定化に関与している可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：PGRN KO mice exhibited lipid abnormality such as higher plasma triglyceride and lower ability of HDL to take up cholesterol. In addition, we crossed PGRN KO mice with ApoE KO mice to generate PGRN<sup>-/-</sup>ApoE<sup>-/-</sup> (double KO, DKO) mice. DKO mice showed much more pronounced atherosclerosis compared with ApoE KO mice. Moreover, PGRN concentration in the blood collected from the culprit lesion in the acute phase of ACS was lower than that in the peripheral blood and in chronic phase of ACS, suggesting that PGRN might be associated with the plaque stability.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：プログラニューリン、HDL、動脈硬化、急性冠症候群、痴呆

## 1. 研究開始当初の背景

心血管病の危険因子として低 HDL コレステロール血症があることは広く知られているが、最近の大規模臨床試験で、単なる高 HDL-C 血症は抗動脈硬化的ではないことが示され、HDL の機能面での評価が必要であ

ることが言われている。以前、HDL の主要構成蛋白のアポ A1 の結合蛋白として、プログラニューリン(PGRN)を報告した。PGRN はこれまで細胞の分化、増殖、炎症などに関与するが、protease により分解され、グラニューリン(GRN)になると炎症に関しては PGRN

とは逆の炎症促進的に作用するのではないかとされていたが、明らかなコンセンサスはなかった。また、若年性痴呆の一つである前頭側頭型痴呆 (FTD) が、PGRN の変異によって起こりうるとの報告がなされ、神経科学領域では大変なトピックスになっていた。一方で、PGRN の HDL の機能や動脈硬化に与える影響についてはほとんど知られていなかった。既述したように FTD 患者の中に PGRN 変異を認める症例があることを海外では報告されていたが、本邦における頻度などについては全く不明であった。また、PGRN が心血管病、特に急性冠症候群 (ACS) のプラークで不安定性と関連するとされる MMP9 の基質になるとの報告はあったが、PGRN と ACS との関連についての報告は全くなかった。

## 2. 研究の目的

### (1) PGRN と脂質代謝、メタボリックシンドローム、動脈硬化との関連

PGRN は、これまで細胞増殖、分化、炎症など様々な機能を持つことが知られている。脂質代謝、メタボリックシンドロームとの関連を PGRN KO マウスで、動脈硬化との関連を PGRN<sup>-/-</sup>ApoE<sup>-/-</sup> double KO マウスを用いて明らかにする。

### (2) PGRN と心血管病、特に急性冠症候群との関連

これまでに我々はヒト大動脈、冠動脈の動脈硬化巣を認めない部位には PGRN はほとんど存在しないが、動脈硬化巣のプラークシオルダー部位の泡沫細胞に一致して PGRN が強発現していることを見出した。さらにプラークの不安定性に関与するとされる MMP-9 の基質に PGRN がなりうるとの報告があることから、ACS の急性期から慢性期にかけての血中 PGRN 濃度の推移を解析する。また、急性期 culprit lesion 近くから採取した血栓吸引血中と末梢血での PGRN 濃度を検討して、プラーク安定性における PGRN の役割について検討する。

### (3) FTD における脂質代謝と動脈硬化の検討と痴呆との関連

前述したように、本邦では臨床的に FTD と診断された中で、どの程度 PGRN 変異を認めるのかは全く不明であった。PGRN に変異を認めると、血中 PGRN 濃度が通常の半分以下になることが知られている。そこで、FTD、性・年齢を一致させた健常人で血中 PGRN 濃度が低値であるものに対して、実際に PGRN 変異があるかをシークエンスし、PGRN 変異を認める FTD 患者の脂質、動脈硬化について検討を行うことで、ヒトでの PGRN 変異による表現型を解析する。

## 3. 研究の方法

(1) PGRN ノックアウト (KO) マウスに通常食または高脂肪食負荷を与えて、脂質代謝、糖代謝などに与える影響を調べる

(2) PGRN-KO マウスとアポ E-KO マウスのダブル KO (DKO) マウスを作製して、PGRN 欠損が動脈硬化に与える影響について検討する。具体的には、大動脈の Oil Red 染色をして、染色された部位の定量化を行う。仮に動脈硬化の程度に差異を認めた場合は、血中、肝臓、大動脈局所での炎症性サイトカイン、ケモカインの定量に加え、eNOS など血管内皮機能、コレステロールエフラックスなどの HDL 機能や HDL 構成蛋白などについて解析する。

(3) 済生会千里病院で治療された急性冠症候群 (ACS) 患者の急性期 culprit 近辺血、末梢血、退院約 1 か月後の慢性期血を採取して、PGRN と ACS との関連について検討する。

(4) 臨床的に FTD と診断された患者の中で PGRN が低値で PGRN 変異を認める症例についての脂質解析や動脈硬化の解析を行う。

## 4. 研究成果

(1) PGRN-KO マウスでは、野生型と比較して血中中性脂肪は高かったが、HDL-C は有意な差は認めなかった。また KO マウスの HDL のコレステロール引き抜き率は野生型と比較して有意に低下していた。このことから PGRN は、HDL の血中濃度には影響を与えないものの、機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。また、高脂肪食負荷の PGRN-KO マウスはインスリン抵抗性を示した。

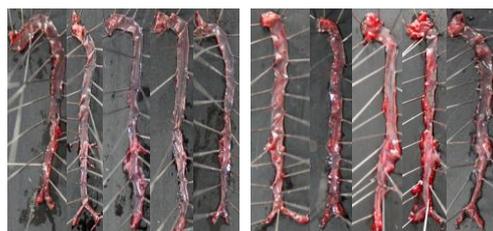
(2) PGRN-KO マウスとアポ E-KO マウスのダブル KO (DKO) マウスは高脂肪食負荷により、アポ E-KO マウスと比較して著明な動脈硬化を呈することが分かった。(図 1 A, B)

(図 1)

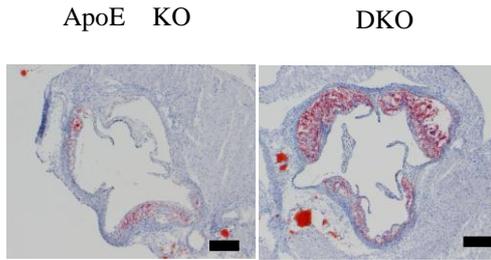
A

ApoE KO

DKO



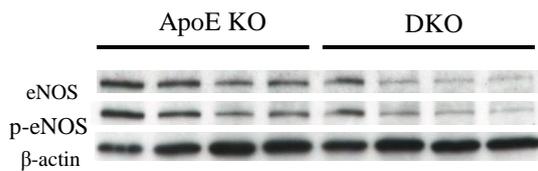
B



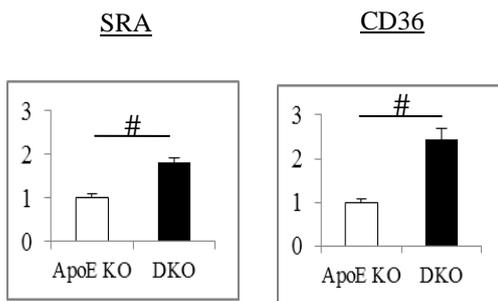
その原因としては、全身、または局所の炎症促進に加えて、ICAM-1, VCAM-1 などの接着因子発現亢進や eNOS の発現低下などの血管内皮障害を認めた。さらには DKO マウスのマクロファージは、易泡沫化であり、それに呼応するように細胞内へのコレステロール取り込みに関与する CD36 や SRA といったスカベンジャーレセプターの発現も亢進していた。(図 2A, B)

(図 2)

A



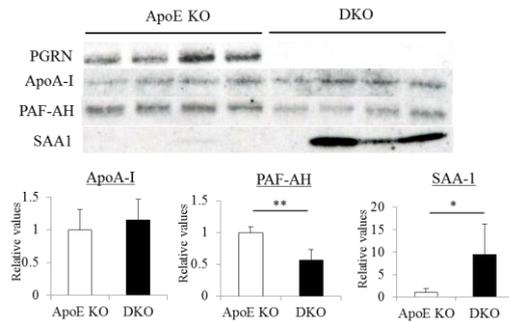
B



(# ; p<0.05)

さらに HDL の構成蛋白も炎症蛋白である serum amyloid A(SAA) の増加や抗酸化蛋白である platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) の減少を認めることも見出した。(図 3)

(図 3)



このように PGRN は、全身、局所の炎症に関与しているばかりでなく、マクロファージの細胞内コレステロールの恒常性や HDL の機能に影響を与えることで動脈硬化を促進するものと考えられた。現在、このような多様な働きを持つ PGRN のシグナル伝達について世界中で検討がなされていると考えられている。昨年には PGRN が TNF 受容体に結合することにより、TNF- $\alpha$  のシグナル伝達を阻害する antagonist として働くとの論文が発表されたが、ごく最近になって、PGRN は TNF 受容体とは結合しないとの論文も発表され、混んとしている。

(3) ACS 患者の急性期局所血 PGRN 濃度は急性期局所血 PGRN 濃度や慢性期血中 PGRN 濃度と比較して有意に低下しており、PGRN が ACS 局所のプラーク安定に関与している可能性が考えられた。

(4) 臨床的に FTD と診断された患者 10 人、最近 PGRN 変異との関連が示唆されているアルツハイマー病患者 10 人、健常人 20 人で血中 PGRN 濃度を測定したところ、FTD 患者では健常人と比較して有意に PGRN 濃度は低下していたが、PGRN 変異が疑われるほど低値の患者はおらず、その後も FTD 患者を増やして検討しているが、現在のところ明らかに低値の患者は見つかっていない。因みにアルツハイマー患者においても健常人と比較して低値の傾向を示したが、有意ではなかった。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

#### 1. 大瀧透、山下静也、他

Deletion of Progranulin Exacerbates Atherosclerosis by changing HDL-associated proteins and altering

cholesterol homeostasis, 第77回日本循環器学会学術集会, 2013年3月15日, パシフィコ横浜

2. 大濱透、山下静也、他 Deletion of Progranulin Results In Various Metabolic Dysfunctions, 第44回日本動脈硬化学会総会, 2012年7月19日, ヒルトン福岡シーホーク
3. 大濱透、山下静也、他 A novel HDL-associated protein, Progranulin, May Play An Atheroprotective Role by Enhancing Reverse Cholesterol Transport, 第75回日本循環器学会学術集会, 2011年8月4日, パシフィコ横浜

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大濱 透 (Ohama Tohru)  
大阪大学・保健センター・助教  
研究者番号：20467583

### (2) 研究分担者

山下 静也 (Yamashita Shizuya)  
大阪大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：60243242

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：